

Control of hepatic gluconeogenesis through the forkhead transcription factor FKHR

著者	大徳 浩照
内容記述	Thesis (Ph. D.)--University of Tsukuba, (A), no. 3103, 2003.3.25 Includes bibliographical references
発行年	2003
URL	http://hdl.handle.net/2241/1947

氏 名 (本 籍)	だい とく ひろ あき 大 徳 浩 照 (千 葉 県)
学 位 の 種 類	博 士 (学 術)
学 位 記 番 号	博 甲 第 3103 号
学位授与年月日	平成 15 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
審 査 研 究 科	農学研究科
学 位 論 文 題 目	Control of Hepatic Gluconeogenesis through the Forkhead Transcription Factor FKHR (フォークヘッド型転写因子FKHRによる肝糖新生制御機構の解析)
主 査	筑波大学教授 工学博士 松 村 正 利
副 査	筑波大学教授 理学博士 山 根 國 男
副 査	筑波大学教授 農学博士 馬 場 忠
副 査	筑波大学教授 農学博士 深 水 昭 吉

論 文 の 内 容 の 要 旨

脳細胞や赤血球は常に一定量のグルコースをエネルギー源として要求しているが、空腹時（低血糖時）、グルコースの主要な供給源であるグリコーゲンが枯渇すると、肝臓は乳酸やアミノ酸など非糖質性前駆体から独自の代謝経路を経てグルコースを産生し、血中に放出して血糖値の恒常性を維持する。絶食時、生体を低血糖から守るため肝臓に備わったこのシステムを糖新生という。最近、核内受容体共役因子PGC-1が肝臓における糖新生律速酵素の発現を制御していることが報告された。PGC-1の発現はグルカゴン（血糖値上昇ホルモン）により誘導され、インスリン（血糖値降下ホルモン）により抑制される。この報告から低血糖時のグルカゴンによるPGC-1遺伝子の発現誘導機構は解明されたが、高血糖時のインスリンによるPGC-1遺伝子の発現抑制メカニズムについてはこれまで明らかにされていなかった。本研究ではPGC-1遺伝子制御領域（プロモーター）の転写抑制機構を解析することで、血糖値の恒常性を支える糖新生のホルモン依存的調節メカニズムを分子レベルで解明することを目的とした。

ヒト PGC-1 遺伝子上流約 1 kb の転写調節領域を含むレポータープラスミドを構築し、肝細胞においてそのレポーター活性を測定した結果、インスリン処理およびそのシグナル伝達因子である PKB の導入によりプロモーター活性は顕著に抑制された。私はこの効果がインスリン応答性転写因子FKHRのリン酸化依存的転写調節に起因するものと考え、PGC-1 遺伝子プロモーターにおけるFKHRの関与を検証した。その結果、FKHRは量依存的にPGC-1 遺伝子のプロモーターを活性化し、一方でその作用はインスリン処理によって打ち消された。

また、クロマチン免疫沈降実験により、*in vivo*においてFKHRがゲノム内のPGC-1 遺伝子の転写調節領域に結合していることを確かめ、さらにPGC-1 遺伝子プロモーター領域に見出した3カ所のインスリン応答配列がFKHRによる転写活性化の作用点として機能していることを明らかにした。

さらに、インスリンによって転写活性が阻害されないFKHR変異体、およびIRS配列を欠失させたPGC-1プロモーターのレポータープラスミドを用いた実験により、PGC-1遺伝子のインスリンによる発現量最低のメカニズムの一端は、PKBを介したFKHR転写活性の抑制制御機構によって説明できることを示した。

以上の結果から、インスリンによるPGC-1遺伝子の発現抑制は転写因子FKHRのインスリンシグナル依存的な転写制御機構に起因していることが明らかになった。最近FKHRによる糖新生の亢進が2型糖尿病の一因であることが遺伝子改変マウスを用いた研究で明らかにされた。この報告はFKHRが実際に個体レベルで糖新生の調節

に關与していることを示唆している。さらに現在私の所属する研究室では、FKHRがリン酸化のみならず、アセチル化およびユビキチン化といった新たな修飾制御を受けることを明らかにしており、こうした転写因子の多重修飾による制御機構の解析が、FKHRによる血糖値恒常性維持の分子メカニズムの解明、さらには2型糖尿病の病態の理解につながるものと考えている。

審 査 の 結 果 の 要 旨

インスリンは血糖値の降下作用をもつ唯一のホルモンであり、その作用機序のひとつとして肝臓における糖新生の抑制が知られている。最近、分子生物学的、および発生工学的なアプローチにより、血糖値上昇ホルモンであるグルカゴンが糖新生を亢進するメカニズムが明らかにされた。この学位論文では、糖新生を転写レベルで制御する核内受容体共役因子PGC-1遺伝子の転写調節機構を解析することで、インスリンによる糖新生の抑制メカニズムを転写レベルで解明することを試みている。その結果、著者はインスリンシグナルがリン酸化酵素PKBを介してPGC-1遺伝子の発現を抑制していることを明らかにした。また、転写因子FKHRがPGC-1遺伝子の発現調節に關与している可能性を予測し、実際にin vivo, in vitroにおけるPGC-1遺伝子プロモーター領域へのFKHRの結合、および転写の活性化を見出した。さらに、様々な遺伝子変異体を構築し、それらを組み合わせた実験により、PGC-1遺伝子のインスリンによる発現抑制メカニズムが、FKHRのPKB依存的な転写抑制機構によって説明できることを証明した。

最後に著者は、以前報告されたグルカゴンによるPGC-1遺伝子の転写調節機構と、本研究から新たに得られた知見とを複合的に考察し、ホルモンによって厳密に制御される糖新生関連因子の発現調節が、転写因子によって多段階的に制御されうるモデルを提示している。

FKHRによる糖新生調節遺伝子の転写制御を細胞レベルで明らかにしたことは評価できるが、糖新生が個体において成立する恒常性維持機構である以上、マウス等を用いた個体レベルでの解析は、本研究を確立するために必須である。しかし、ここに示された分子レベルの研究自体は非常に注意深く行われており、十分な信頼性を有していると判断でき、当該研究分野の発展に十分な貢献をしたと判断できる。

よって、著者は博士（学術）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。